

文章编号: 1001-1498(2009)04-0512-09

重茬对山杏苗圃地土壤氨基酸组分及含量的影响^{*}

崔旭东¹, 杨承栋², 何家庆^{1**}, 傅得贤³, 黄汝多¹, 黄训端¹

(1. 安徽大学生命科学学院, 安徽省资源植物研究中心, 安徽 合肥 230039;

2. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091; 3. 赤峰市林业局, 内蒙古 赤峰 024000)

摘要:以头茬和重茬山杏育苗地的土壤为试样,以相似立地条件杨树育苗样地,以及山杏-柠条混交育苗样地作为比较和对照,研究了3种不同样地的头茬与重茬以及重茬不同发育时间土壤氨基酸种类和含量的变化,以探索山杏重茬栽培与土壤氨基酸变化的关系。结果表明:(1)重茬土壤可检出的氨基酸种类减少,游离氨基酸可检出的种类较酸解氨基酸少;重茬土壤氨基酸含量总体上在减少,酸解的含量远比游离的大,酸解和游离氨基酸中均含有较多的谷氨酸、缬氨酸、天冬氨酸、甲硫氨酸和苯丙氨酸,游离氨基酸中还含有较多的酪氨酸,样地土壤中生氰前体氨基酸含量较高;头茬和重茬土壤中含硫氨基酸的比例较高,在酸解氨基酸中占各自样地土壤中酸解氨基酸总量的7%~22%,在游离氨基酸中占各自样地土壤中游离氨基酸总量的8%~28%。(2)3种不同育苗地之间的氨基酸变化存在一定差异,山杏育苗地氨基酸含量的变化程度较其它2个育苗地的大;山杏-柠条混交育苗地氨基酸的种类和含量比山杏育苗地稍多,杨树育苗地又稍多于山杏-柠条混交育苗地。

关键词:山杏;土壤氨基酸;重茬;HCN

中图分类号: S714

文献标识码: A

Analysis of Soil Amino Acid's Composition and Content in *Amniaca sibirica's* Seedling Place

CUI Xu-dong¹, YANG Cheng-dong², HE Jia-qing^{1*}, FU De-xian³, HUANG Ru-duo¹, HUANG Xun-duan¹

(1. School of life Science, Anhui Research Center of Plant Resoure, Anhui University, Hefei 230039, Anhui, China;

2. Research Institute of Forestry, CAF, Beijing 100091, China;

3. Chifeng Municipal Forestry Bureau, Chifeng 024000, InnerMongolia, China)

Abstract:We had soil samples of first stubble and second stubble from *Amniaca sibirica's* seedling sites. The variety and content of soil amino acid were studied and the relation between second stubble and the changes of soil amino acid were explored. Experiment results showed that the changes of the variety and content of soil amino acid were very great in different time: (1) the variety of amino acids reduced after continuous cropping and the free amino acid reduced more than the acidolysis amino acid; As a whole, the content of amino acid was in reduction and the content of acidolysis was more than that of the free amino acid; The acidolysis and free amino acid contained more Glu, Val, Asp, Met, Phe, the free amino acid also contained more Tyr; There were more cyanogenic precursor amino acid in the soil; The proportion of sulfur amino acid in each soil sample was high: the acidolysis amino acid was 7%—22%, and the free amino acid 8%—28%. (2) There was certain difference about the changes of amino

收稿日期: 2008-12-18

基金项目: 国家自然科学基金(30571477)

作者简介: 崔旭东(1983—),男,在读硕士研究生,主要从事资源植物和植物生理生态学研究。

*本研究在氨基酸分析方面得到了安徽省国家农业标准化与检测中心的支持,承蒙中心二部与三部各位老师的帮助,尤其是刘坤老师给予了具体的技术指导,在此一并表以衷心的感谢!

**通讯作者:教授,主要从事植物分类学和植物生理生态学方面的研究。E-mail: hejq1949@126.com

acid among three treatment areas, the changes of *Ameniaca sibirica* were greater than that of the other two areas. The variety and content of amino acid in the mixed treatment area were more than that of the *Ameniaca sibirica* area and the variety and content of amino acid in the poplar tree treatment area were the most.

Key words: *Ameniaca sibirica*; soil amino acid; continuous cropping; HCN

重茬效应是许多作物普遍发生的现象,它导致作物生长不良、病害发生、产量下降、品质降低,已成为农林生产实践的一个严重问题,鉴于此,国内外学者针对重茬效应的发生机理及解决途径展开了一系列的研究。发达国家由于人口压力较小、农业耕作制度不同,虽对重茬问题有所涉及,但在研究水平和投入上均不及国内。目前,国内学者对于大豆、花生、烟草等经济作物、蔬菜以及杨树、杉木等人工林的重茬问题进行了集中深入研究,确立了众多的重茬效应因子,并且做了大量的防治工作,初步取得了较显著的成效^[1-2]。氨基酸是土壤中主要的有机氮化合物,占土壤中全氮的 15%~60%,它的组成和含量直接影响着土壤氮素的供应状况。土壤氨基酸的分布特征是微生物、植物和环境因子相互作用的平衡产物,因而分析土壤中氨基酸的分布及变化规律,将有助于研究土壤中氮的来源及转化,有助于研究氨基酸对土壤的化学性质和物理性质的影响,进而有助于了解其对作物生长、生理变化的影响。国外学者在土壤氨基酸的研究方面做了不少工作,国内陈水挟等^[3]分析了我国广州、海南两地几种自然土的氨基酸分布,发现不同土样的氨基酸组成相似。李世清等^[4]的研究表明,长期施肥能增加土壤氨基酸的含量,并以中性氨基酸增加最为明显。徐阳春等^[5]的研究表明,土壤有机氮各形态中以氨基酸态氮占优势地位,且土壤各粒级中的酸解有机氮均以氨基酸态氮所占比重最大。这些研究多数侧重于氨基酸态氮在土壤有机氮组成中的比例以及其在土壤肥力中的作用,少有涉及重茬条件下土壤氨基酸种类及含量的变化。

山杏 (*Ameniaca sibirica* (L.) Lam.) 为蔷薇科 (Rosaceae) 杏属 (*Ameniaca*) 灌木或小乔木,主要生长在黑龙江、辽宁、内蒙古、河北、山西及俄罗斯西伯利亚东部等地区,是我国北方干旱山地丘陵区特有的经济林树种,也是耐旱、耐瘠薄、耐盐碱、固沙保土、涵养水源、美化环境的良好树种。经济和生态价值的完美结合使之成为我国“三北”(东北、西北、华北)地区造林的主要树种^[6],进而刺激了市场对山杏苗的大量需求,但山杏重茬育苗不能成活,10年内,乃至更长时间仍不能在原育地重新培育山杏苗,

否则就会造成重茬育苗失败^[7]。

如何解决山杏重茬育苗难以成活的问题,国外尚未见报道,国内主要采取土壤消毒、深翻曝晒、加强田间管理等措施来应对,但不能根除^[8],有关山杏重茬育苗难以成活的机理则报道甚少,从土壤氨基酸种类及含量变化,来探讨山杏重茬育苗不能成活机理的研究则尚未见报道。本文着重从氮代谢的角度出发,采集不同茬山杏育苗地的土壤样品,研究了山杏头茬和重茬育苗条件下土壤氨基酸的组成及含量变化,并以重茬育苗可以成活的杨树样地土壤,以及山杏、柠条混交育苗地作比较和对照,以期揭示山杏重茬育苗难以成活的可能机理。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验地位于内蒙古自治区东南部蒙古高原向辽河平原的过渡带——赤峰市翁牛特旗桥头林场(42°17'10"N, 118°19'07"E),该林场属于半山半川、丘陵山区,坡向以阳坡为主,坡度多缓坡,坡位多中坡,海拔高度 520~600 m,属中温带、半干旱、大陆性季风气候区,年均气温 5.8℃,有效积温 2 851℃,无霜期 130~140 d,年降水量为 330~350 mm,年蒸发量 2 179 mm,植物生长期 139 d。该试验地位于平原地区,土壤为栗钙土。

1.2 试验设计及土样采集

试验采用随机区组设计,设 3 个处理,每个处理设 3 次重复,共 9 个小区,每个小区面积 400 m²。2006 年 6 月设计的 3 个处理分别为赤峰杨 (*P. xiaojuan* W. Y. Hsuliang cv. chifengensis) 育苗、柠条 (*Caragana Korshinskii* Kom.) 与山杏混交育苗和山杏育苗;2007 年 7 月将混交育苗区改为仅育山杏苗,其余 2 处理培育重茬山杏苗和重茬杨树苗,具体设计见表 1。2006 年至生长季结束时,各处理区样地所培育的苗木生长正常,2007 年 6 月份观测时,发现重茬山杏苗小区苗木根系开始腐烂,叶片开始变黄,其它处理小区苗木生长正常。

土壤样品采集:2006 年 11 月和 2007 年 6 月、7 月,分别在各处理样地、每小区各取样 1 次,均取 0~

20 cm 土样, 取样参照文献 [9] 的方法。分别得到头茬土壤样品 (2006 年 11 月份取), 记为 A; 重茬土壤

样品 (2007 年 6 月份取), 记为 B6; 重茬土壤样品 (2007 年 7 月份取), 记为 B7。

表 1 试验设计

时间 (年 - 月)	随机区组设计											
	第 1 区组小区			第 2 区组小区			第 3 区组小区					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
2006 - 06	杨树	山杏	柠条	山杏	杨树	山杏	柠条	山杏	杨树	山杏	柠条	山杏
2007 - 07	杨树	山杏		山杏	杨树	山杏		山杏	杨树	山杏		山杏

1.3 氨基酸的分析方法

1.3.1 酸解氨基酸的提取 (盐酸水解法) 按照宋治军等^[10-11]的方法, 准确称取土样 2.5 g 于水解管中, 加 10 mL 6 mol·L⁻¹ 的盐酸, 吹氮气 3 min 后, 边拿出氮气喷头边迅速盖上橡皮塞, 再旋紧盖子, 置于 (110 ± 1) 烘箱内水解 22 h。取出, 用滤纸过滤到试管中, 取 150 μL 滤液于 2 mL 离心管中, 加 4 mol·L⁻¹ 的 NaOH 225 μL, 加 pH 值 2.2 的磷酸 - 柠檬酸缓冲液 1.125 μL, 混匀, 1.2 万 r·min⁻¹ 离心 10 min, 经 H 型酸性阴离子交换树脂柱纯化, 吸取 1 mL 上清液于上机小瓶中, 用日立 L-8800 氨基酸分析仪进行测定 (色氨酸的提取测定参照崔淑文等^[12]的方法, 为了便于比较和表述方便, 以下所讲酸解氨基酸均包含色氨酸。)

1.3.2 游离氨基酸的提取 (乙醇提取法) 按照张龙翔等^[13]的方法, 准确称取土样 50 g, 于 150 mL 锥形瓶中, 加 100 mL 75% 的乙醇, 混匀。放到 25 °C 恒温振荡水浴锅上振荡提取 3 h, 取出混匀, 用滤纸过滤到 100 mL 锥形瓶中, 将滤液倒到蒸发皿上在 50 °C 烘箱中蒸干。用 1.5 mL 无离子水溶解蒸干的残渣, 加 4 mL 氯仿, 混匀, 将液体倒入离心管中, 再用 2 mL 氯仿冲洗蒸发皿 2 次。3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 小心吸取上清液 1 mL 于 1.5 mL 离心管中 4 °C 冰箱保存; 然

后用日立 L-8800 氨基酸分析仪进行测定^[14]。

样品的分析测定在安徽大学生命科学院资源植物及生物活性物质研究中心、安徽省国家农业标准化与检测中心完成。

2 结果与分析

2.1 不同育苗样地对土壤酸解氨基酸的影响

2.1.1 不同育苗样地对土壤酸解氨基酸种类的影响 研究结果 (表 2) 表明: 重茬以及随着重茬时间的延长, 样品中检测不到的氨基酸种类在增加, 2006 年 11 月采集的头茬土壤样品中有 1~3 种氨基酸未检出, 在头茬所有样品中, 仅半胱氨酸均未检出; 2007 年 6 月份采集的重茬土样, 有 2~5 种氨基酸未检出, 到 7 月份时增加到 4~6 种未检出 (1 号样地除外), 重茬所有样品均未检出酪氨酸、脯氨酸。重茬山杏育苗样地 7 月份比 6 月份有更多种类的氨基酸检测不到, 这很可能是由于 7 月份苗木死亡比例升高, 引起根系代谢活动下降及土壤中微生物活性下降有关。从不同育苗处理来看, 杨树育苗处理的 3 块样地、3 次采样共 9 个土样 (包括头茬 1 次和重茬 2 次), 对每个样品, 作 18 种氨基酸检测, 共有 27 次未检出相应的氨基酸。山杏、柠条混交育苗

表 2 重茬前后酸解氨基酸的检测情况比较

样地号	土壤样品	检出氨基酸种数	未检出氨基酸种类	样地号	土壤样品	检出氨基酸种数	未检出氨基酸种类	样地号	土壤样品	检出氨基酸种数	未检出氨基酸种类
1	A	16	Cys Arg	2	A	17	Cys	3	A	16	Cys Arg
	B6	16	Tyr Pro		B6	14	Thr Ser Tyr Pro		B6	14	Thr Ala Tyr Pro
	B7	16	Tyr Pro		B7	13	Asp Thr Ala Tyr Pro		B7	14	Glu Ala Tyr Pro
4	A	17	Cys	5	A	17	Cys	6	A	17	Cys
	B6	14	Thr Ala Tyr Pro		B6	14	Thr Ala Tyr Pro		B6	14	Ala His Tyr Pro
	B7	14	Glu Ala Tyr Pro		B7	14	Thr Ala Tyr Pro		B7	12	Thr Glu Ala Tyr His Pro
7	A	15	Cys Arg pro	8	A	16	Cys Arg	9	A	15	Cys Arg pro
	B6	13	Thr Ser Ala Tyr Pro		B6	14	Glu Ala Tyr Pro		B6	14	Thr Ser Tyr Pro
	B7	14	Glu Ala Tyr Pro		B7	12	Thr Glu Ala Tyr His Pro		B7	13	Thr Glu Ala Tyr Pro

注: A 为头茬 (2006 年 11 月所采样品), B6 为重茬 (2007 年 6 月所采样品), B7 为重茬 (2007 年 7 月所采样品)。Asp: 天冬氨酸; Thr: 苏氨酸; Ser: 丝氨酸; Glu: 谷氨酸; Gly: 甘氨酸; Ala: 丙氨酸; Cys: 半胱氨酸; Val: 缬氨酸; Met: 甲硫氨酸; Ile: 异亮氨酸; Leu: 亮氨酸; Tyr: 酪氨酸; Phe: 苯丙氨酸; Lys: 赖氨酸; His: 组氨酸; Arg: 精氨酸; Pro: 脯氨酸; Tpr: 色氨酸。以下同此。

处理样地及其起苗后培育纯山杏苗育苗样地,3次采样共 9 个土样,对每个样品,作 18 种氨基酸检测,共有 31 次未检测出相应的氨基酸;山杏育苗处理样地,头茬采样 1 次和重茬采样 2 次,共 9 个样品,作 18 种氨基酸检测,共有 33 次未检出相应的氨基酸,该研究结果表明:杨树育苗样地的土壤氮素状况比另外 2 个育苗样地的好,氨基酸种类要多,而山杏 × 柠条育苗样地的土壤氮素状况又稍好于山杏育苗样地,氨基酸的种类要多,这说明头茬的混交效应对二茬纯山杏苗能正常生长起了一定的有利影响,而山杏重茬育苗导致土壤氮素状况差、氨基酸种类减少,这也许是山杏重茬育苗难以成活的重要原因之一。

2.1.2 不同育苗样地对土壤酸解氨基酸组成、含量的影响

2.1.2.1 不同育苗样地土壤酸解氨基酸组成和含量分析 由表 3 可以看出:3 个不同育苗处理 9 块样地的土壤氨基酸组成均以天冬氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、甘氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸为主,每块样地中这 8 种氨基酸的含量总和,占到了各自样地中土壤氨基酸总量(18 种氨基酸含量总和)的 62%~89% (表 4),这与前人的结果基本一致^[15-16],但与陈水挾等^[3]报道的以谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸为主有一些差别:本研究所设 3 个处理 9 个样地中的缬氨酸含量位居第 2,脯氨酸在许多土样中没有检出,每个样地中检测出的甲硫氨酸含量占样地中氨基酸总量的 7%~12%,较以往报道的高出很多^[17],这很可能与山杏的重茬育苗不能成活有关,其作用机理有待更深入的研究。

表 3 3 个育苗处理样地土壤酸解氨基酸的含量及组成情况

氨基酸名称	杨树育苗			山杏 × 柠条育苗			山杏育苗		
	1	4	7	2	5	8	3	6	9
Asp	432.17	329.04	408.02	401.64	341.09	348.11	287.31	350.17	532.42
Thr	107.82	68.35	96.00	58.41	43.24	68.91	111.77	45.43	50.17
Ser	147.39	140.81	120.47	71.31	98.83	176.69	136.73	122.46	152.02
Glu	206.73	110.62	227.71	217.44	120.98	90.95	109.27	104.92	221.47
Gly	186.63	211.35	213.88	178.44	178.06	206.52	203.11	174.56	186.30
Ala	143.20	49.55	50.35	108.36	46.43	52.64	48.88	44.47	86.77
Cys	86.88	85.14	65.44	86.26	83.39	62.42	90.31	58.64	60.88
Val	282.20	264.70	280.49	252.59	239.77	282.08	249.80	255.68	272.80
Met	229.22	226.44	207.81	192.78	201.85	192.84	222.72	187.92	199.40
Ile	164.82	151.33	160.65	135.13	110.08	133.39	143.53	107.18	115.12
Leu	155.89	143.08	144.67	124.71	102.21	115.79	137.79	104.48	113.90
Tyr	11.78	13.40	12.50	12.34	12.25	10.91	12.20	14.85	11.60
Phe	146.51	135.92	151.85	139.59	128.90	155.35	132.68	143.00	154.28
Lys	122.36	101.44	110.18	115.17	90.94	110.10	101.57	90.48	105.37
His	89.35	47.19	63.29	92.30	47.85	54.82	83.32	46.85	58.98
Arg	28.93	38.91	36.69	37.73	28.65	32.85	26.74	114.15	34.38
Pro	26.98	21.42	0.00	26.66	17.67	22.99	22.89	22.27	0.00
Trp	15.40	12.06	12.82	17.55	11.85	14.00	11.10	8.84	10.99
合计	2 584.25	2 150.75	2 362.81	2 268.41	1 904.04	2 131.34	2 131.71	1 996.37	2 366.86

注:1~9 为样地号,以下同此。

表 4 3 个育苗地土壤中 8 种主要酸解氨基酸之和占酸解氨基酸总量的比例情况

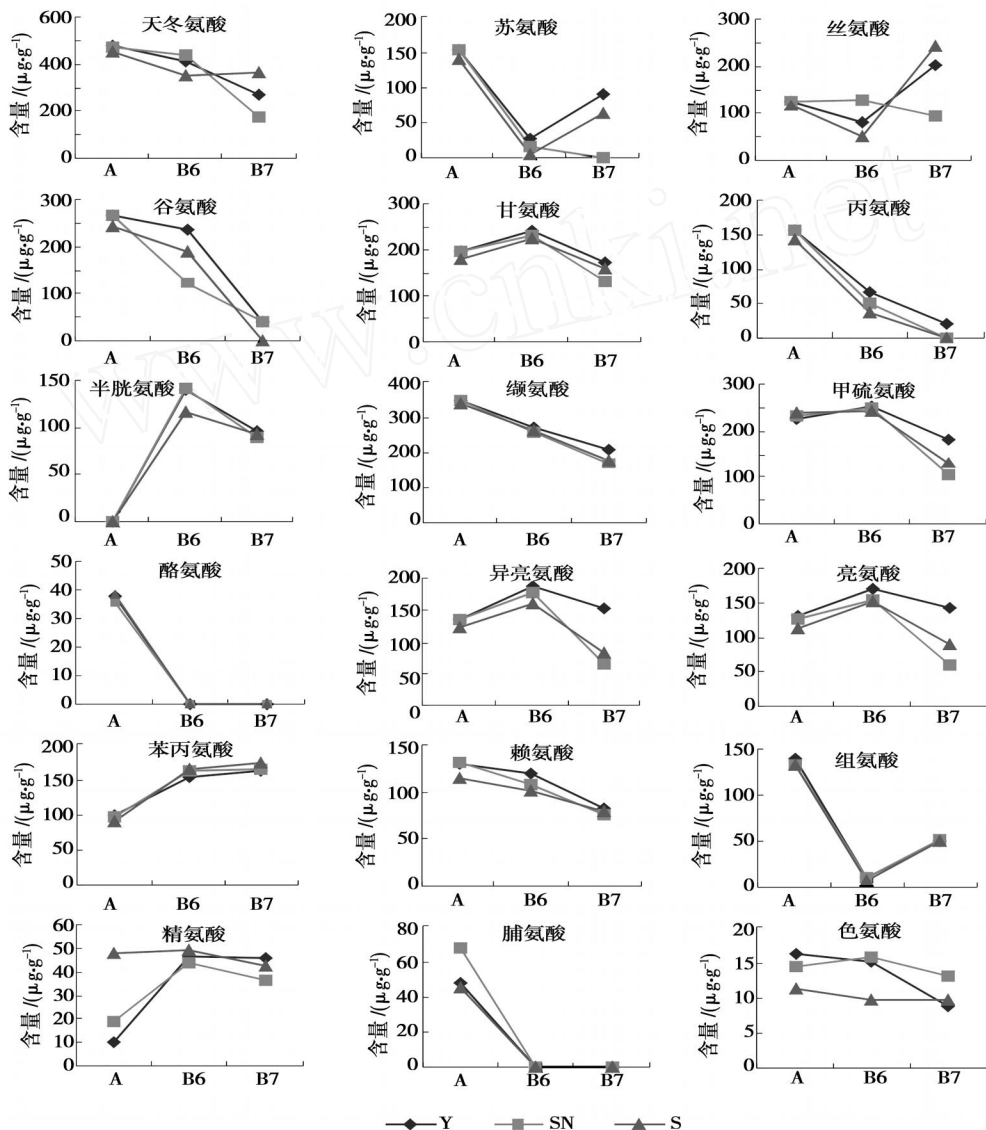
样地号	土壤样品	杨树			样地号	土壤样品	山杏 × 柠条			样地号	土壤样品	山杏		
		M/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	T/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	R/%			M/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	T/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	R/%			M/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	T/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	R/%
1	A	2 008	2 882	69.7	2	A	2043	2 971	68.8	3	A	1 809	2 563	70.6
	B6	2 020	2803	72.1		B6	2 166	2 661	81.4		B6	1 405	1 800	78.1
	B7	1 384	2 022	68.5		B7	718	1 121	64.1		B7	1 245	1 999	62.3
4	A	1 830	2 593	70.6	5	A	1 668	2 366	70.5	6	A	1 686	2 660	63.4
	B6	1 577	2 003	78.7		B6	1 519	1 923	79.0		B6	1 531	1 850	82.8
	B7	1 311	1 820	72.0		B7	1 082	1 388	78.0		B7	1 067	1 453	73.5
7	A	1 831	2 599	70.4	8	A	1 937	2 781	69.7	9	A	1 850	2 573	71.9
	B6	2 236	2 508	89.1		B6	1 716	2 315	74.1		B6	2 339	2 715	86.1
	B7	1 319	1 943	67.9		B7	922	1 256	73.4		B7	1 198	1 779	67.3

注:M:每个样品 8 种氨基酸之和;T:每个样品 18 种氨基酸的总量;R:M 与 T 的百分比。

土壤氮素是植物氮素营养的主要来源,是土壤肥力的重要组成部分。土壤有机氮是土壤氮素的主体,占土壤全氮的 95%以上,而氨基酸态氮又是有机氮的最重要组成部分,因此,其组成和含量直接影响着土壤氮素的供应状况^[18]。随着重茬时间的延长,平均每克土壤样品氨基酸的总量(18种氨基酸含量的总和)在急剧减少。这说明重茬后土壤氮素的供应能力均迅速下降,又以重茬山杏育苗样地下降的尤为严重,是杨树处理样地下降的两倍还多,这将引起植物体氮素含量的缺乏及氨基酸种类减少,但杨树育苗样地土壤的氮素供应状况则相对好些。山杏出现重茬死苗现象很可能与样品中氨基酸的含量下降有关。

2.1.2.2 不同种酸解氨基酸在不同茬、不同发育时期含量的变化 图 1 显示:各种酸解氨基酸在不同

育苗处理样地及同一育苗处理样地不同茬、3个不同采样时间含量的变化规律大致分为以下几种类型:1.先升后降型,包括甘氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、精氨酸共 6种;2.先降后升型仅为组氨酸 1种;3.一直下降型,包括谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、赖氨酸、脯氨酸共 6种,后 2种氨基酸在重茬样地 6、7月份与头茬相比均显著下降 ($P < 0.05$);4.不断上升型,只有苯丙氨酸 1种(杨树育苗样地 7月份土壤中含量下降),与头茬相比,重茬 6月份和 7月份均极显著上升 ($P < 0.05$);天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、色氨酸变化规律不明显。各种氨基酸含量变化主要发生在不同茬样地,而在同茬不同时期,大部分变化不大,甘氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸等少数存在显著差异 ($P < 0.05$)。



A为头茬(2006年 11月所采样品);B6为重茬(2007年 6月所采样品);B7为重茬(2007年 7月所采样品)
Y为杨树育苗;SN为山杏与柠条混交育苗;S为山杏育苗。

图 1 每一种酸解氨基酸在不同处理样地和不同时间的变化情况

若只从头茬与重茬考虑,各种氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、精氨酸、色氨酸除外)含量的变化又可分为以下 3 种情况:头茬样地土壤中始终处于较高水平的,包括天冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、赖氨酸、组氨酸、脯氨酸等共 9 种;头茬样地处于较低水平的,包括半胱氨酸、苯丙氨酸 2 种;头茬样地中含量处于中间水平的,包括丝氨酸、甘氨酸、甲硫氨酸共 3 种。这说明重茬土壤中的大多数氨基酸种类在减少,含量也下降了,这会直接影响到有关代谢活动和土壤氮素的供应状况,半胱氨酸、苯丙氨酸、精氨酸的变化比较特殊,在头茬生长季节结束时土壤中含量就很低,这 3 种氨基酸很可能是导致重茬地力退化的关键因素,应引起进一步注意。除个别样品未检出天冬氨酸外,该氨基酸在几乎所有样品中的含量,始终维持在 $200 \sim 500 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间的较高水平,甘氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸的含量始终维持在 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 之上,这些特殊之处应引起重视。

从不同处理样地来看,除精氨酸等个别氨基酸外,头茬土样中各种氨基酸在 3 种不同育苗处理样地之间的含量稍有差别,但其差异不显著 ($\alpha = 0.05$),只有杨树育苗样地的苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等少数氨基酸的含量,显著比其他 2 个处理样地的大 ($P < 0.05$)。2007 年重茬生长到 6 月份时,除苯丙氨酸、谷氨酸、缬氨酸和精氨酸外,重茬山杏育苗样地土壤各种氨基酸的含量都比其它 2 种育苗样地的低,杨树育苗样地土壤中的含量要稍大于前茬山杏 柠条混交育苗样地。到了 2007 年 7 月前茬为山杏 柠条育苗样地、现茬为山杏样地土壤中的各种氨基酸含量均最低,出现此种情况的原因需

要更深入的研究来说明。

总体上,杨树育苗样地在头茬 2006 年 11 月、2007 年重茬的 6、7 月份土样中氨基酸含量的变化程度比它 2 种育苗样地的小,这说明山杏育苗样地土壤中的微生物以及植物所处的氮素环境发生了不利变化,氨基酸的种类和含量在减少,山杏苗的大量死亡,很可能与这些变化因素有关。

2.2 重茬育苗对土壤游离氨基酸的影响

2.2.1 重茬育苗对土壤游离氨基酸种类的影响

土壤中游离氨基酸有很多土样检测不到,精氨酸、脯氨酸在 3 个采样时间所采集的样品中均未检出,酪氨酸在 2007 年 6 月份重茬所有样品中均未检出,谷氨酸、甘氨酸、半胱氨酸、缬氨酸在所有样品中均能检出;头茬 2006 年 11 月、重茬 2007 年 7 月份,所采集的土样中均未检出色氨酸,但 2007 年 6 月份在重茬 3 个样品中检测到了色氨酸,1 个为杨树处理的土样,另 2 个分别为前茬是山杏 柠条处理、现茬为山杏的土样,而重茬山杏处理土样则均未检出,这说明头茬栽种的混交林中的柠条对土壤环境的改良起了一定作用。色氨酸是植物生长素合成的前体,它的缺乏可能是造成山杏重茬育苗难以成活的原因之一。测定结果表明,游离氨基酸检测不到的氨基酸种类多于酸解氨基酸,重茬山杏苗圃地土壤中游离氨基酸可检出的种类也有减少的趋势。重茬山杏苗难以成活,很可能与色氨酸的缺少以及游离氨基酸种类的减少,有着分不开的关系。

2.2.2 重茬育苗对土壤游离氨基酸含量的影响

2.2.2.1 不同处理样地土壤游离氨基酸组成和含量分析 由表 5 可知:3 种处理样地土壤游离氨基

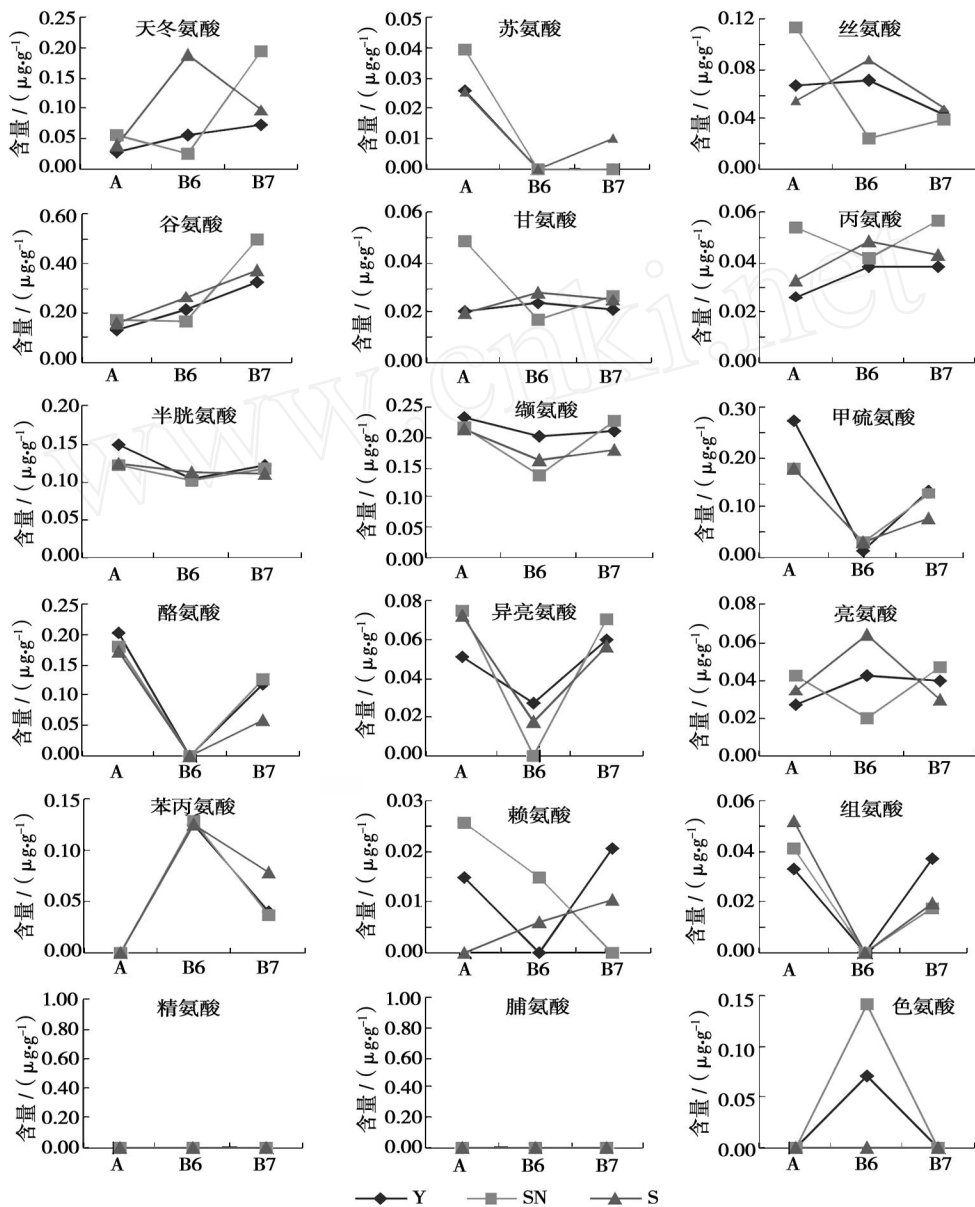
表 5 3 个育苗样地土壤游离氨基酸的含量及组成情况

氨基酸名称	杨树育苗处理			山杏 柠条育苗处理			山杏育苗处理		
	1	4	7	2	5	8	3	6	9
Asp	0.04	0.05	0.07	0.10	0.05	0.12	0.10	0.11	0.11
Thr	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01
Ser	0.07	0.05	0.06	0.11	0.05	0.02	0.09	0.04	0.06
Glu	0.27	0.20	0.20	0.28	0.21	0.34	0.19	0.32	0.29
Gly	0.02	0.02	0.02	0.06	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02
Ala	0.03	0.03	0.04	0.07	0.03	0.05	0.05	0.04	0.03
Cys	0.15	0.11	0.11	0.11	0.12	0.11	0.12	0.11	0.12
Val	0.24	0.19	0.21	0.21	0.20	0.17	0.20	0.18	0.18
Met	0.23	0.12	0.07	0.12	0.13	0.08	0.13	0.08	0.08
Ile	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04
Leu	0.03	0.02	0.06	0.04	0.02	0.04	0.03	0.05	0.05
Tyr	0.15	0.12	0.06	0.13	0.12	0.06	0.11	0.06	0.06
Phe	0.04	0.04	0.09	0.04	0.04	0.08	0.04	0.08	0.08
Lys	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.00	0.00
His	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.04	0.02	0.02
Arg	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Pro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Trp	0.00	0.07	0.00	0.05	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00
合计	1.35	1.13	1.08	1.45	1.17	1.18	1.23	1.17	1.14

酸的组成以谷氨酸、缬氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、丝氨酸和苯丙氨酸为主,这 8 种氨基酸的含量总和占到了各处理样地土壤中氨基酸总量的 65% ~ 98%。天冬氨酸、谷氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸这 5 种氨基酸在酸解和游离氨基酸中均占主要地位,不同的是在酸解氨基酸中测不到或是含量很少的酪氨酸、半胱氨酸,在游离氨基酸中的含量却相对较高,游离氨基酸中谷氨酸的含量最高,这与李世清等^[15]的报道相同。每个土壤样品中半胱氨酸、甲硫氨酸这两种含硫氨基酸的和占各自土壤样品中氨基酸总量的 8% ~ 27%,较以往报道

的高出很多^[4],含硫氨基酸的变化情况可能与山杏的重茬育苗不能成活有关,其作用机理有待更深入的研究来证实。

2.2.2.2 不同种类游离氨基酸的变化情况 游离氨基酸主要存在于土壤溶液和孔隙中,来源于根系、土壤微生物分泌物和土壤中各种有机物质的降解产物。土壤微生物是游离氨基酸的主要生产者,土壤中的游离氨基酸含量很低,一般为 1~4 μg·g⁻¹,游离氨基酸的变化能更加直接的反映土壤氮素供应状况。由图 2 可以看出:从头茬到重茬 6、7 月份 3 个月时间,各种游离氨基酸的变化规律大致可分为以



A 为头茬 (2006 年 11 月所采样品); B6 为重茬 (2007 年 6 月所采样品); B7 为重茬 (2007 年 7 月所采样品)
Y 为杨树育苗 (重茬杨树育苗); SN 为山杏与柠条混交育苗 (重茬山杏育苗); S 为山杏育苗 (重茬山杏育苗)。

图 2 每一种游离氨基酸在不同处理和不同时间的变化情况

下 2 种类型:先降后升型,包括缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、组氨酸共 5 种。余下 13 种氨基酸为变化不规律的类型。

与酸解氨基酸的变化相比,游离氨基酸的变化类型减少且变化的规律也不明显,只有甲硫氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸等个别氨基酸在不同时期有显著差异 ($P < 0.05$)。2007 年 7 月游离的谷氨酸含量处在高水平,与酸解的甲硫氨酸、异亮氨酸正好相反,游离的先降后升,推测造成这种相反变化的可能原因为:土壤微生物是游离氨基酸的主要生产者,山杏重茬育苗过程中苗木根系的分泌物影响了土壤微生物的活动,使其增加或减少了某种氨基酸的合成或分解,至于影响的具体过程尚有待深入研究。

各处理区样地土壤中每种游离氨基酸的含量都很低,与酸解氨基酸相差 3~4 个数量级。3 个时期各种氨基酸在不同处理间均无显著差异 ($\alpha = 0.05$ 水平上),2006 年头茬样地各种游离氨基酸,以山杏 杏条处理区土壤中含量最高(半胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、酪氨酸、组氨酸除外),这可能与杏条的固氮作用有关。重茬的 2007 年 6 月份,多数游离氨基酸以山杏处理样地的含量较高,推测这可能是由于山杏根系受到破坏,细胞内溶物外漏所致。到了重茬的 2007 年 7 月份,山杏 杏条处理样地的含量又回到了最高的位置。各处理样地的游离谷氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸等的含量变化与同种类的酸解氨基酸恰好相反,这与土壤游离氨基酸的来源和利用途径以及氨基酸的性质有密切的联系。

在游离氨基酸中半胱氨酸、缬氨酸的含量大于 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,这与李世清等^[9,15]报道的未检出或是含量很少有很大不同,值得进一步研究。

3 结论与讨论

本研究结果表明:重茬后土壤氨基酸含量呈下降趋势,多数酸解氨基酸含量重茬后明显下降 ($P < 0.05$),重茬 7 月含量低于重茬 6 月份含量,这很可能与土壤氨基酸主要来自土壤微生物和植物根系的代谢活动有关,因为到 7 月份大部分苗已死,根系代谢活动自然下降。游离氨基酸含量低,且变化没有酸解氨基酸明显,可能是因为土壤游离氨基酸主要来源于土壤微生物的代谢产物。土壤颗粒的吸附,以及植物根系吸收利用使得不容易检测到其细微变化。

不同种类的氨基酸对植物的生物学效应有显著的差异^[19-20],慎镛吉等^[21]及张夫道^[22]研究表明,甲硫氨酸和苯丙氨酸对水稻生长有抑制作用。本研究的结果分析显示:重茬后山杏样地酸解苯丙氨酸的含量不断上升,游离的含量虽然在 2007 年重茬 7 月份出现了下降,但仍高于头茬;甲硫氨酸含量虽然有所下降,但在酸解氨基酸中仍占氨基酸总量的 7%~12%,在游离氨基酸中也占 1.5%~15.0%,这比陈水挾^[3],李世清等^[4]的研究结果高许多,山杏苗的生长很可能受到这两种含量相对较高的氨基酸的抑制。甲硫氨酸是乙烯生物合成的前体^[23],土壤微生物及山杏本身可能利用较多的甲硫氨酸合成较多的乙烯,从而恶化山杏根系生态环境,高等植物在乙烯生物合成过程中能产生氢氰酸(HCN),该物质是典型的呼吸阻断剂,在山杏代谢活动发生紊乱的情况下,HCN 有可能被释放到细胞外,从而对山杏产生毒害。

苦杏仁甙属芳香族氰甙,是一种生氰糖苷,在植物界中分布广泛,其中以蔷薇科植物(杏、桃、李)种子的含量最高。研究发现,山杏树体中苦杏仁甙的含量较其它树种高^[24]。苦杏仁甙在葡萄糖甙酶的作用下水解生成杏仁甙,杏仁甙遇热易分解生成苯甲醛和 HCN。山杏苗在炎热的夏季大量烂根死亡可能与杏仁甙分解有一定的关系。

氨基酸是生氰糖苷的前体,目前已经确切知道缬氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和酪氨酸是合成生氰糖苷的前体。本研究分析测得这几种氨基酸,除酪氨酸本身在土壤中含量就很低外,其它都是山杏苗地土壤酸解氨基酸的主要组成部分,尤其是苯丙氨酸是唯一的一种含量一直在升高的氨基酸,缬氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸是游离氨基酸的主要组成部分,缬氨酸的含量在酸解和游离氨基酸中均位居第 2,说明在各育苗样地中生氰糖苷的前体非常丰富。近来的研究发现,不仅植物具有生氰作用,细菌、真菌、千足虫及蛾类也具有生氰能力^[51],细菌和真菌可以通过 Gly 的氧化脱羧的方式产生 HCN^[23],而 Gly 是样地土壤酸解氨基酸的主要组成部分,含量也很高。本研究结果显示,山杏苗地土壤中的氨基酸构成有利于植物及土壤微生物生氰糖苷合成活动的进行。

山杏重茬育苗不能成活这一问题的产生是个复杂的过程,是山杏-土壤-微生物之间相互作用的结果,其中氮素的利用无疑是个重要的因素。山杏

重茬后土壤中氨基酸的种类及数量发生了变化,一些氨基酸(如苏氨酸、丙氨酸等)缺失;一些利于微生物和植物合成生氰糖苷的氨基酸含量增加;土壤中氮素失衡,生氰糖苷大量合成,重茬后的这些变化均不利于山杏苗的正常生长;且在温度、土壤通气、pH等状况合适的情况下生氰糖苷被分解并释放出苯甲醛和氢氰酸,它们使山杏苗的呼吸、碳、氮等各种代谢发生紊乱,最终造成山杏的烂根死苗。柠条与山杏混交育苗、起苗后再育山杏苗获得成功,很可能与混交时使土壤氨基酸种类增加、含量提高有一定关系。为了深入探讨重茬育苗条件下,土壤氨基酸种类和含量变化与山杏苗成活的关系,将于下一阶段开展重茬育苗条件下施用氨基酸肥料试验。

参考文献:

- [1] 刘福德. 杨树连作地力衰退及林地生产力维持技术的研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2005
- [2] 郑良永, 胡剑非, 林昌华, 等. 作物连作障碍的产生及防治 [J]. 热带农业科学, 2005, 25 (2): 58 - 62
- [3] 陈水挾, 钟月明, 王将克. 一些土壤样品的氨基酸初步分析 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1996, 35 (6): 106 - 109
- [4] 李世清, 李生秀, 李东方. 长期施肥对半干旱农田土壤氨基酸的影响 [J]. 中国农业科学, 2002, 35 (1): 63 - 67
- [5] 徐阳春, 沈其荣, 茆泽圣. 长期施用有机肥对土壤及不同粒级中酸解有机氮含量与分配的影响 [J]. 中国农业科学, 2002, 35 (4): 403 - 409
- [6] 张建光, 史聪平, 刘玉芳. 河北省山杏资源的开发与利用 [J]. 河北农业大学学报, 2003, 26 (增刊): 96 - 100
- [7] 孙国荣. 山杏规模化育苗技术 [J]. 山西林业, 2004 (2): 23 - 24
- [8] 王志刚. 大棚韭菜连作障碍机理及养分调控研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2006
- [9] 范俊岗. 刺槐、国槐根际土壤中氨基酸和 IAA 的含量 [J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 1994, 21 (3): 93 - 96
- [10] 宋治军. 现代仪器与测试方法 [M]. 西安: 西北大学出版社, 1995: 170 - 185
- [11] Fom ánek P, Klejduš B, Vranov áV. Bio-available amino acids extraction from soil by demineralized water and 0.5 M ammonium acetate [J]. *Amino acids*, 2005, 28 (4): 427 - 429
- [12] 崔淑文, 马东霞, 王淑芳, 等. 饲料中色氨酸测定方法研究 [J]. 中国饲料, 1993 (3): 33 - 35
- [13] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术 (第二版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 1997
- [14] Engel M H, Macko S, Silfer A. Carbon isotope composition of individual amino acids in the Murchison meteorite [J]. *Nature*, 1990, 348: 47 - 49
- [15] 李世清, 李生秀, 杨正亮. 不同生态系统土壤氨基酸氮的组成及含量 [J]. 生态学报, 2002, 22 (3): 380 - 386
- [16] Campbell C A, Sohnitzer M, Lafond G P, et al. Thirty-year crop rotations and management practices effects on soil and amino nitrogen [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1991, 55 (3): 739 - 745
- [17] 付会芳, 李生秀. 土壤氮素矿化与土壤供氮能力. 土壤有机氮组分及其矿化 [J]. 西北农业大学学报, 1992, 20 (增刊): 63 - 67
- [18] Kunnas A V, Jauhianinen T P. Separation and identification of free amino acid enantiomers in peat by capillary gas chromatography [J]. *Journal of Chromatography*, 1993, 628 (2): 269 - 273
- [19] 张夫道, 孙羲. 氨基酸对水稻营养作用的研究 [J]. 中国农业科学, 1984, 17 (5): 61 - 66
- [20] Hodge A, Robinson D, Fitter A. Are microorganisms more effective than plants at competing for nitrogen? [J]. *Trends in Plant Science*, 2000 (7): 304 - 308
- [21] 慎镛吉, 山口益郎, 奥田东. 无菌液耕培养下での水稻幼植物の生育に及ぼすアミノ酸の影響 [J]. 日本土壤肥科学杂志, 1996, 37 (5): 311 - 314
- [22] 张夫道. 有关植物有机营养的研究 [J]. 土壤肥料, 1986 (6): 15 - 19
- [23] Arshad M, Jr Frankenberg W T. Microbial production of plant hormones [J]. *Plant and Soil*, 1991, 133: 1 - 8
- [24] 张元寿. 植物病理生理学 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996: 217 - 219